10 月 October
2019, 62(10): 1129 - 1139
昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
http: //www. insect. org. cn
doi: 10.16380/j. kcxb. 2019.10.002

烟粉虱 MED 隐种抑制蛋白基因 *Btarrestin* 的克隆及特性分析

梁金金[1,2], 何 超[2], 刘少楠[2], 谢 文[2], 张友军[2,*]

(1. 湖南农业大学植物保护学院, 长沙 410128; 2. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘要:【目的】明确烟粉虱 *Bemisia tabaci* MED 隐种抑制蛋白基因 *Btarrestin* 是否参与吡虫啉耐药性。【方法】根据已有烟粉虱转录组数据,利用 RT-PCR 克隆 *Btarrestin* 的全长序列,进行生物信息学分析。通过 qPCR 分析 *Btarrestin* 在烟粉虱 MED 隐种各个龄期(卵,1 -2 龄、3 龄、4 龄若虫,雌、雄成虫)以及吡虫啉处理(100 mg/L)后成虫中的表达量变化,明确其时空表达模式。利用 RNAi 技术沉默 *Btarrestin*,观察沉默前后 *Btarrestin* 表达量和烟粉虱 MED 隐种成虫死亡率变化。【结果】成功克隆烟粉虱 MED 隐种 *Btarrestin* 的 cDNA 序列(GenBank 登录号: MK204377),编码区全长 1 227 bp,编码 409 个氨基酸,预测所编码的蛋白分子量约为 45.33 kD,理论等电点(pI)为 8.38。保守结构域分析表明,Btarrestin 具有 Arrestin_N 和 Arrestin_C 两个超家族保守结构域,符合抑制蛋白家族特征。分子系统树分析表明,Btarrestin 与褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 的 Arrestin 亲缘关系最近。*Btarrestin* 的表达量随烟粉虱 MED 隐种的生长发育逐渐升高,成虫期表达量最高。100 mg/L 吡虫啉处理成虫 24 h 后 *Btarrestin* 的表达量较对照增加了 2.39 倍。RNAi 干扰 *Btarrestin* 后进行生物测定,烟粉虱 MED 隐种成虫的死亡率上升了 31.27%。【结论】*Btarrestin* 可能与烟粉虱 MED 隐种对吡虫啉的耐药性有关。

关键词: 烟粉虱 MED 隐种; 抑制蛋白; 耐药性; 吡虫啉; RNA 干扰

中图分类号: Q965 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2019)10-1129-11

Cloning and characterization of arrestin gene *Btarrestin* in the whitefly *Bemisia tabaci* MED (Hemiptera: Aleyrodidae)

LIANG Jin-Jin[1,2], HE Chao[2], LIU Shao-Nan[2], XIE Wen[2], ZHANG You-Jun[2,*] (1. College of Plant Protection of Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract:【Aim】To clarify the relationship between arrestin gene *Btarrestin* and imidacloprid resistance in the whitefly *Bemisia tabaci* MED.【Methods】Based on the previous transcriptome data of *B. tabaci*, the full-length cDNA sequence of *Btarrestin* was cloned by RT-PCR in *B. tabaci* MED and then subjected to bioinformatics analysis. The expression levels of *Btarrestin* at different developmental stages (egg, 1st -2nd instar, 3rd instar and 4th instar nymph, and female and male adult) and in adults exposed to imidacloprid (100 mg/L) were detected by qPCR. After silencing *Btarrestin* by RNAi, the expression level of *Btarrestin* and the mortality of *B. tabaci* MED adults were detected.【Results】The cDNA sequence of *Btarrestin* (GenBank accession no.: MK204377) was cloned from *B. tabaci* MED. The

---

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0201201); 现代农业产业技术体系(CARS-24-C-02); 蔬菜有害生物控制与优质栽培北京市重点实验室和中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP-IVFCAAS)
作者简介: 梁金金, 女, 1994 年 1 月生, 河南周口人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫毒理学, E-mail: 420747269@qq.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zhangyoujun@cass.cn
收稿日期 Received: 2019-01-03; 接受日期 Accepted: 2019-04-07

complete cDNA is 1 127 bp in length encoding 409 amino acids, with the molecular weight of 45.33 kD and the pI value of 8.38. Conserved domain analysis indicated that Btarrestin has conserved domains of the two superfamilies Arrestin_N and Arrestin_C, consistent with the family characteristics of arrestins. Phylogenetic tree analysis showed that Btarrestin shares high homology with the arrestin of *Nilaparvata lugens*. Developmental stage-specific expression results revealed that the expression level of *Btarrestin* was increased gradually with its development and reached the peak at the adult stage. The expression level of *Btarrestin* in adults exposed to 100 mg/L imidacloprid for 24 h increased by 2.39-fold as compared with that in the control. The RNAi results showed that knockdown of *Btarrestin* in *B. tabaci* MED increased the mortality of imidacloprid-treated adults by 31.27%. 【Conclusion】*Btarrestin* might be involved in imidacloprid resistance in *B. tabaci* MED.

Key words: *Bemisia tabaci* MED; arrestin; drug resistance; imidacloprid; RNA interference

烟粉虱 *Bemisia tabaci* 是一种世界性的农业害虫,是由许多隐种组成的复合种,目前已报道的隐种多达 36 种(Dinsdale *et al*., 2010; De Barro *et al*., 2011; Liu *et al*., 2012; Esterhuizen *et al*., 2013; Barbosa *et al*., 2014; Boykin and De Barro, 2014)。其中,B 型(MEAM1 隐种)、Q 型(MED 隐种)烟粉虱是危害最为严重的入侵种,烟粉虱主要通过直接取食韧皮部汁液和传播煤污病/植物病毒造成间接危害两种方式为害农作物(Jones, 2003; Li *et al*., 2010),对农作物的生产带来严重的危害。为控制烟粉虱的为害,主要采用化学农药进行田间防治(张芝利和罗晨, 2001; 罗晨和张芝利, 2002; Cameron *et al*., 2013),杀虫剂的滥用导致不同地区的烟粉虱对杀虫剂产生不同程度的抗性,且连年施药后抗性逐渐增强(Luo *et al*., 2010; Wang *et al*., 2010; Yuan *et al*., 2012),目前,烟粉虱的抗药性已成为其防治的主要障碍。同时,烟粉虱对吡虫啉、噻虫嗪、啶虫脒等新烟碱类杀虫剂产生了交互抗性,使得烟粉虱的防治难上加难(Elbert and Nauen, 2000; Nauen *et al*., 2002; Rauch and Nauen, 2003; Horowitz *et al*., 2004, 2005; Nauen and Denholm, 2005; Prabhaker *et al*., 2005; Wang ZY *et al*., 2009; Schuster *et al*., 2010; Roditakis *et al*., 2011; Wang *et al*., 2018)。

抑制蛋白(arrestin)是 G 蛋白偶联受体(G-protein coupled receptors, GPCRs)的重要调节因子,其与绝大多数激活并磷酸化的 GPCRs 特异性结合,阻断了传导至 G 蛋白的信号(Lohse *et al*., 1990; Shukla *et al*., 2011; Lohse and Hoffmann, 2014),且可通过与网格蛋白相互作用触发 GPCRs 的内吞作用,进而参与信号传导等多种功能(Ferguson *et al*., 1996; Goodman *et al*., 1996; Kang *et al*., 2013)。此外,Arrestin 还可通过非经典途径介导信号传导,即 Arrestin 参与不涉及 G 蛋白的信号传导途径(Heuss and Gerber, 2000; Shenoy *et al*., 2006; Shukla *et al*., 2011; Lohse and Hoffmann, 2014)。Sun 等(2012)研究表明 Arrestin 基因在淡色库蚊 *Culex pipiens pallens* 溴氰菊酯抗性种群中高表达,认为 Arrestin 基因可能与农药的抗性相关。实际上,研究发现 Arrestin 有调控代谢的功能(Sonoda *et al*., 2008; Luan *et al*., 2009),其可能通过调节 GPCR 信号通路来调控 P450 相关基因的转录水平,进而参与抗性的形成(Sun *et al*., 2012; Li *et al*., 2014, 2015; Liu *et al*., 2015; Li and Liu, 2017)。

本研究基于已有烟粉虱转录组数据,数据表明 100 mg/L 吡虫啉处理的烟粉虱 MED 隐种 *Btarrestin* 的表达量上升 2 倍(数据未发表)。为探究 *Btarrestin* 是否参与吡虫啉耐药性,本研究通过 RT-PCR 克隆和验证 *Btarrestin* cDNA 全长序列,利用 qPCR 确定其在烟粉虱 MED 隐种各个龄期的表达特征,并在利用 RNA 干扰(RNA interference, RNAi)沉默 *Btarrestin* 后检测和分析沉默前后烟粉虱 MED 隐种对吡虫啉的药剂敏感性变化,为进一步探究该基因的功能及其与抗性的关系提供理论基础,并为烟粉虱的防治工作提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源和植物

烟粉虱 MED 隐种于 2009 年采自中国农业科学院附近花卉市场的一品红,转接到养虫笼内用棉花进行继代饲养,将棉花和养虫笼一并置于培养箱中,培养箱温度为 25 ± 1℃,相对湿度(RH)为 60% ± 10%,光周期为 14L:10D。实验所用的棉花是由中

国农业科学院蔬菜花卉研究所温室培育、不接触任何农药的无虫苗。

1.2　主要试剂

总 RNA 提取试剂 Trizol 购于 Invitrogen 公司，cDNA 合成试剂盒（PrimeScript^{TM} RT Reagent Kit）购于 TaKaRa 公司，引物合成委托北京擎科新业生物技术有限公司，Q5 超保真 DNA 聚合酶、dNTP 购于 New England BioLabs 公司，克隆载体 Blunt、感受态细胞 *Trans*-T1 购自北京全式金生物技术有限公司，qPCR 相关试剂购自天根生化（北京）有限公司，胶回收试剂盒、RNAi 相关试剂购自 Promega 公司。

1.3　抑制蛋白基因 cDNA 克隆和序列分析

采用 Trizol 法提取烟粉虱 MED 隐种总 RNA，经琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop 2000（Thermo）对 RNA 的完整性、浓度和纯度进行检测，使用 cDNA 合成试剂盒（TaKaRa 公司），按照说明书合成 cDNA，保存于 –20℃ 备用。

根据烟粉虱转录组数据得到 *Btarrestin* 的 cDNA 序列，使用 Primer Premier 5.0 设计特异性引物（表 1），以烟粉虱 MED 隐种成虫 cDNA 为模板，根据 Q5 超保真 DNA 聚合酶说明书操作步骤进行 PCR 扩增。PCR 反应体系（25 μL）：5 × Q5 Reaction Buffer 5 μL，dNTPs（10 mmol/L）0.5 μL，正反向引物（10 μmmol/L）各 1.25 μL，cDNA 模板 2 μL，Q5 High-Fidelity DNA Polymerase 0.25 μL，5 × Q5 High GC Enhancer（Optional）5 μL，Nuclease-Free Water 9.75 μL。PCR 反应程序：98℃ 30 s；98℃ 10 s，60℃ 30 s，72℃ 1 min，30 个循环；72℃ 2 min。PCR 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测后，将符合预期大小的 DNA 片段进行切胶纯化，连接到克隆载体 Blunt，转化到感受态细胞（*Trans*-T1）之后在含有氨苄并涂有 IPTG 和 X-gal 的 LB 琼脂板上 37℃ 过夜培养，挑取阳性克隆于 LB 液体培养基中 37℃ 200 r/min 2 h，进行菌液 PCR 鉴定。选取 4 个单克隆送至北京擎科新业生物技术有限公司进行测序，将测序结果与转录组获得的序列进行校对，获得烟粉虱 MED 隐种抑制蛋白基因的全长 cDNA 序列。

1.4　生物信息学分析

信号肽预测使用在线软件 SignalP（http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/）分析；使用在线工具 ExPASy（https://web.expasy.org/protparam/）对蛋白质的分子量、理论等电点等进行预测；采用 TMHMM 软件（http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/）进行蛋白质跨膜区域预测；利用 NCBI Conserved Domains 工具（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi）对蛋白质的结构域进行分析；同源性比较使用 BLAST（https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi）工具和 DNAMAN 软件；采用 MEGA6.0 软件中邻接法（neighbor-joining method）构建了系统发育树（Tamura *et al.*，2013），重复运行 1 000 次。

1.5　实时荧光定量 PCR 分析

用 Premier 5.0 设计 qPCR 引物（表 1），以 1.3 节合成的 cDNA 为模板。qPCR 在 Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System（美国）上进行，反应体系（20 μL）：2 × SuperReal PreMix Plus（SYBR Green）10 μL，cDNA 模板 1 μL，正反向引物（10 pmol/μL）各 0.6 μL，50 × ROX Reference Dye 0.4 μL，RNase-Free ddH_2O 7.4 μL。反应程序：95℃ 10 min；95℃ 15 s，60℃ 30 s，72℃ 30 s，40

表 1　引物信息

Table 1　Primer information

引物 Primers	引物序列（5′–3′） Primer sequences	用途 Purposes
Btarrestin-ORF-F	ATGTTCCCGTTAATACTCCTGGC	RT-PCR
Btarrestin-ORF-R	TTACTCATCTGGCTCGTTTAATCTGA	
QPCRBtarrestin-F	TGGGCGTCAAGTTCAGCAAAG	qPCR
QPCRBtarrestin-R	ACTGACGAGGGGGAGTTGGC	
EF-1α-F	TAGCCTTGTGCCAATTTCCG	
EF-1α-R	CCTTCAGCATTACCGTCC	
SDHA-F	GCGACTGATTCTTCTCCTGC	
SDHA-R	TGGTGCCAACAGATTAGGTGC	
TUB1α-F	CACTGTTGTTCCTGGTGGC	
TUB1α-R	AGTGGACGAAAGCACGCTTG	
DsBtarrestin-F	GGATCCTAATACGACTCACTATAGGTGCTGTCGAAGCAACAAATC	RNAi
DsBtarrestin-R	GGATCCTAATACGACTCACTATAGGATGTGAAACCCTTGCTGACC	

个循环。筛选基因的定量引物，运用 cDNA 连续稀释 2 倍（1∶1，1∶2，1∶4，1∶8，1∶16 和 1∶32）的方法构建标准曲线来确定 PCR 效率。引物扩增效率由公式 $E = 10^{(-1/slope)} - 1$ 计算得到，采用扩增效率在 95% ~105% 之间且熔解曲线为单峰的引物。处理包括 3 个生物学重复，每个生物学重复进行 4 个技术重复，采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算基因的相对表达量（Pfaffl，2001）。

1.6 *Btarrestin* 在烟粉虱 MED 隐种不同发育阶段的相对表达量检测

利用 qPCR 技术检测 *Btarrestin* 基因在烟粉虱 MED 隐种不同发育阶段的相对表达量。研究烟粉虱不同发育阶段基因的相对表达水平时，*SDHA* 是最稳定的内参基因（Li *et al*.，2013），选择其作为本实验的内参基因。不同发育阶段的烟粉虱 MED 隐种包括：卵、1 -2 龄若虫、3 龄若虫、4 龄若虫以及雌成虫和雄成虫。卵的收集：取 2 ~3 棵无虫苗，放入烟粉虱 MED 隐种养虫笼内，4 d 后去除苗上的成虫，用毛笔将卵扫下；1 -2 龄、3 龄、4 龄若虫的收集：在显微镜下用解剖针将若虫挑至 2 mL 离心管，1 -2龄和 3 龄若虫约 200 头，4 龄若虫约 100 头；雌成虫和雄成虫的收集：用指型管（直径 5 mm，长 50 mm）收集初羽化的成虫，在显微镜下区分雌雄后收集雌成虫约 100 头，雄成虫约 200 头。所有样品收集后立即置于液氮中冷冻，-80℃保存备用。cDNA 合成同 1.3 节，qPCR 反应同 1.5 节。实验设 3 个生物学重复，每个生物学重复进行 3 个技术重复。

1.7 吡虫啉处理烟粉虱 MED 隐种成虫后 *Btarrestin* 的表达量分析

药剂处理使用饲喂法，在干扰管内进行。干扰管是一个透明玻璃管（直径 20 mm，长 50 mm），将 0.20 mL 的饲喂液置于顶端覆盖的两层封口膜（美国加拿大铝业包装，IL，美国）中，试管内用黑色棉花塞密封，外侧用黑色套子遮盖。饲喂液配比：5% 酵母提取物、30% 蔗糖、100 mg/L 吡虫啉和水，用丙酮（分析纯，北京化工厂）将吡虫啉溶解后，加入到含有 5% 的酵母提取物和 30% 蔗糖的饲喂液中，Buffer（含有微量丙酮、5% 酵母提取物、30% 蔗糖和水）为对照组。每管放入羽化后 1 -3 d 的成虫约 50 头，干扰管放置于温度为 25℃，相对湿度为 80%、光周期为 14L∶10D 的培养箱。24 h 后收集所有仍存活的成虫（约 35 头/管），液氮冷冻后置于 -80℃冰箱冻存（He *et al*.，2018）。处理包括 3 个生物学重复，每个生物学重复进行 3 个技术重复。cDNA 合成同 1.3 节，使用 qPCR 对 *Btarrestin* 的表达进行定量分析，测定方法参照 1.5 节，*TUB1α* 是最稳定的内参基因（Liang *et al*.，2014），选择其作为本实验的内参基因。

1.8 *Btarrestin* 的 RNAi 分析

1.8.1 RNAi 干扰效率的确定：使用 T7 RiboMAX Express RNAi 试剂盒（Promega，Madison，WI，美国），按照说明书合成 *Btarrestin* 的 dsRNA（ds*Btarrestin*），引物序列见表 1。通过饲喂法（见 1.7 节），在含有饲喂液的干扰管内对烟粉虱 MED 隐种羽化后 1 -3 d 的成虫进行 RNA 干扰实验。饲喂液配比：5% 酵母提取物、30% 蔗糖、0.5 μg/μL ds*Btarrestin* 和水（Upadhyay *et al*.，2011）；以 ds*GFP* 替代 ds*Btarrestin* 为对照。干扰管放置于温度为 25℃，相对湿度为 80% 和光周期为 14L∶10D 的培养箱。48 h 后收集所有仍存活的成虫（约 45 头/管），液氮冷冻后置于 -80℃冰箱冻存。处理和对照均设置 3 个生物学重复（每个生物学重复进行 3 个技术重复），每个生物学重复取烟粉虱 MED 隐种约成虫 50 头。cDNA 合成同 1.3 节，采用 qPCR 的方法检测 RNAi 方法干扰 *Btarrestin* 表达的效率，方法参照 1.5 节。*EF-1α* 是最稳定的内参基因（Li *et al*.，2013），故选择其作为本实验的内参基因。

1.8.2 生物测定：将 RNAi 干扰 48 h 仍存活的成虫置于新的含有饲喂液的干扰管内进行生物测定，研究烟粉虱对药剂敏感性的变化。饲喂液配比：5% 酵母提取物、30% 蔗糖、100 mg/L 吡虫啉和水，吡虫啉处理方法同 1.7 节，Buffer（含有微量丙酮、5% 酵母提取物、30% 蔗糖和水）为空白对照组，*GFP* 为阴性对照组，处理 24 h 之后记录死亡率[死亡率 = 死亡虫数/(死亡虫数 + 活虫数)]。处理和对照均设 9 次重复，每个重复处理了约 50 头烟粉虱 MED 隐种成虫。

1.9 数据分析

采用 SPSS Statistics 17 软件进行实验数据统计分析。100 mg/L 吡虫啉处理 24 h 烟粉虱 MED 隐种的 *Btarrestin* 表达量与对照（buffer）的差异和 ds*Btarrestin* 处理 48 h 对烟粉虱 MED 隐种的 *Btarrestin* 干扰效率与对照（*GFP*）的差异均采用独立样本 *T* 检验。*Btarrestin* 在烟粉虱 MED 隐种不同发育阶段（卵，1 -2 龄、3 龄、4 龄若虫，雌、雄成虫）的相对表达量差异和 ds*Btarrestin*，ds*GFP* 和 buffer 三者分别处理 48 h，烟粉虱 MED 隐种对吡虫啉的敏感性差异均采用单因素方差分析；平均值均采用

Duncan 氏多重比较法进行显著性差异分析。

2　结果

2.1　*Btarrestin* 全长的克隆及序列分析

根据烟粉虱转录组数据得到 *Btarrestin* 序列，设计特异引物克隆烟粉虱 MED 隐种 *Btarrestin* 的全长序列，ORF 为 1 227 bp（图 1）。使用 DNAMAN 对 *Btarrestin* 序列进行翻译，推测其编码 409 个氨基酸。采用在线软件 SignalP 和 TMHMM 对该基因进行信号肽和跨膜区域预测，该蛋白无信号肽和跨膜结构（图 2）。由 *Btarrestin* 序列推导的蛋白质分子式为 $C_{2005}H_{3193}N_{553}O_{615}S_{14}$，分子量为 45.33 kD，等电点为 8.38，总平均疏水系数为 -0.425，不稳定系数为 40.10，脂溶系数为 78.77。利用 NCBI 的 Conserved Domains 对 *Btarrestin* 的氨基酸序列进行蛋白质结构域分析，结果表明，*Btarrestin* 编码的氨基酸序列在第 25-180 位氨基酸之间存在一个 Arrestin_N 超家族保守结构域；在第 200-358 位氨基酸之间存在一个 Arrestin_C 超家族保守结构域。Btarrestin 二级结构预测结果表明，其有 80 个 α-螺旋，128 个延伸链，15 个 β-转角，185 个无规则卷曲，分别占 19.61%，31.37%，3.68% 和 45.34%。

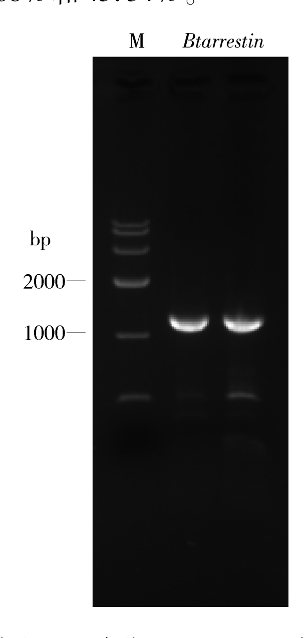


图 1　烟粉虱 MED 隐种 *Btarrestin* ORF 扩增电泳图

Fig. 1　Electrophoretogram for PCR products of *Btarrestin* ORF from *Bemisia tabaci* MED

M：DNA 分子量标准 DNA molecular weight marker.

2.2　*Btarrestin* 多序列比对和进化树分析

将 *Btarrestin* 的 cDNA 序列翻译为氨基酸序列，通过 NCBI 在线 BLAST 将 Btarrestin 的氨基酸序列进行相似性比对，对包括烟粉虱 MED 隐种在内的 5 种昆虫抑制蛋白的氨基酸序列进行比对（图 3）。结果显示，烟粉虱 MED 隐种抑制蛋白的氨基酸序列与褐飞虱 *Nilaparvata lugens* Arrestin（GenBank 登录号：XP 022197820.1）的一致性最高，为 83.21%，其次是佛罗里达弓背蚁 *Camponotus floridanus* Arrestin（GenBank 登录号：XP 011258347.1），采采蝇 *Glossina morsitans morsitans* Arrestin（GenBank 登录号：ADD19077.1），冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* Arrestin（GenBank 登录号：AAG54081.1），其氨基酸序列一致性分别为 81.37%，70.98% 和 45.50%。从 NCBI 数据库中搜索已知抑制蛋白的氨基酸序列，构建系统进化树（图 4）。结果显示，烟粉虱 MED 隐种与褐飞虱的亲缘关系最近，聚为一支，膜翅目的麦茎蜂 *Cephus cinctus*、欧洲熊蜂 *Bombus terrestris* 和佛罗里达弓背蚁聚为一支，双翅目的淡色库蚊 *Culex pipiens pallens* 和冈比亚按蚊聚为一支，表明抑制蛋白基因在昆虫的进化过程中具有保守性。

2.3　*Btarrestin* 在烟粉虱 MED 隐种不同发育阶段的相对表达量

采用 qPCR 的方法，以卵期的表达量为对照，分析烟粉虱 MED 隐种各阶段（卵，1-2 龄、3 龄、4 龄若虫，成虫）*Btarrestin* 的表达水平。结果表明，*Btarrestin* 的表达量随着烟粉虱 MED 隐种的发育显著上升，在成虫中表达量最高（图 5）。

2.4　吡虫啉处理烟粉虱 MED 隐种成虫后 *Btarrestin* 的表达

用 100 mg/L 吡虫啉处理烟粉虱 MED 隐种成虫 24 h 后，*Btarrestin* 的表达量显著上升（$P<0.01$）。与对照组相比，*Btarrestin* 的表达量增加了 2.39 倍（图 6）。

2.5　RNAi 干扰 *Btarrestin* 后烟粉虱 MED 隐种成虫对吡虫啉的耐受性

通过饲喂烟粉虱 MED 隐种成虫 ds*Btarrestin*，能显著降低靶标基因的表达量（$P<0.01$），48 h 后对照组的死亡率为 2.17%，处理组的死亡率为 5.88%，相较 ds*GFP* 组，饲喂 ds*Btarrestin* 后 *Btarrestin* 的表达量降低了 33.20%（图 7：A）。干扰后用含有 100 mg/L 吡虫啉的饲喂液处理烟粉虱 MED 隐种成虫 24 h，buffer（饲喂液）作为空白对照，ds*Btarrestin* 组死亡率与 ds*GFP* 组相比升高了 31.27%（$P<0.05$）（图 7：B）。

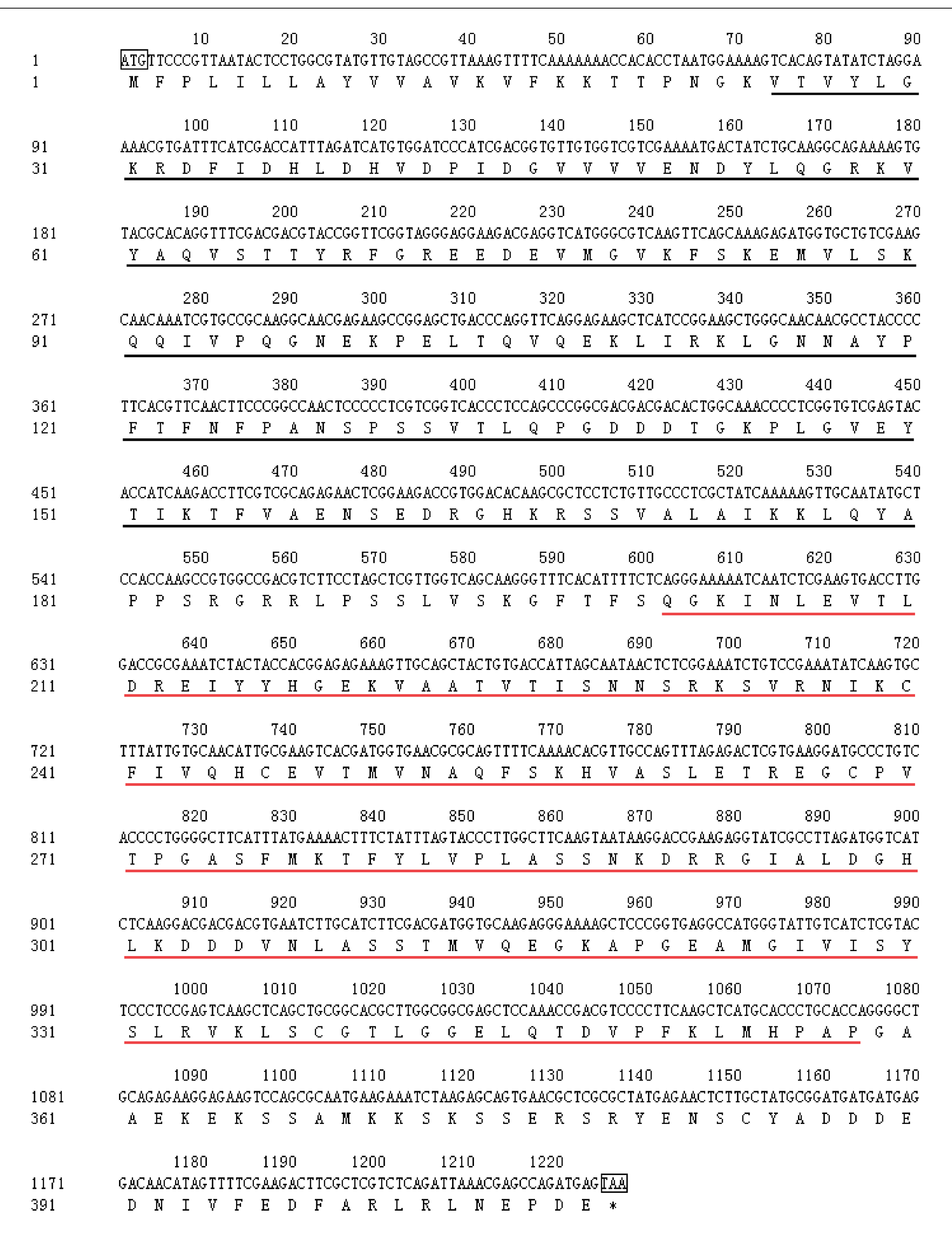


图 2 烟粉虱 MED 隐种的 *Btarrestin* 核苷酸序列以及推导的氨基酸序列

Fig. 2 Nucleotide and deduced amino acid sequences of *Btarrestin* from *Bemisia tabaci* MED

黑色方框表示起始密码子和终止密码子，黑色下划线表示 Arrestin_N 超家族保守结构域，红色下划线表示 Arrestin_C 超家族保守结构域。The start codon and stop codon are marked in black boxes, and the conserved domains of the Arrestin_N superfamily and Arrestin_C superfamily are underlined in black and red, respectively.

3 讨论

抑制蛋白是负责 G 蛋白偶联受体脱敏和调节 GPCR 活性的主要蛋白(Krupnick and Benovic, 1998)，平均大小约为 45 kD，其与绝大多数激活并磷酸化的 GPCR 特异性结合阻止了 G 蛋白介导的信号传导(Lohse and Hoffmann, 2014)。本研究通过 RT-PCR 克隆了烟粉虱 MED 隐种 *Btarrestin* 基因的 cDNA 全长序列，开放阅读框全长 1 227 bp，编码 409 个氨基酸。同时，在 Btarrestin 中发现了两个保守结构域，即 Arrestin_N 超家族保守结构域(第25 – 180 位)和 Arrestin_C 超家族保守结构域(第 200 – 358 位)。系统发育树和序列比对结果表明，在比较的 8 种昆虫中，烟粉虱 MED 隐种与褐飞虱聚为一支，其抑制蛋白的氨基酸序列与褐飞虱的同源序列

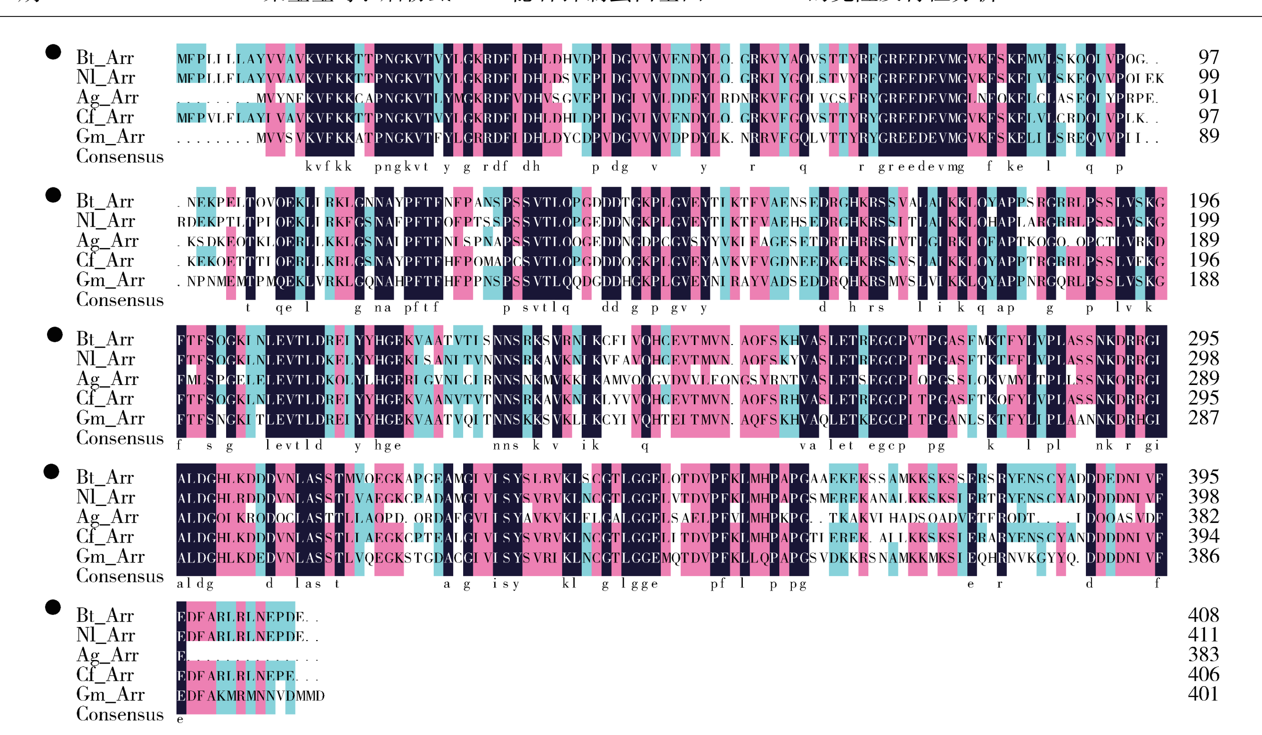


图 3　烟粉虱 MED 隐种与其他昆虫 Arrestin 的氨基酸序列比对

Fig. 3　Multiple alignment of amino acid sequences of arrestins of *Bemisia tabaci* MED and other insect species

Arrestin 氨基酸序列来源物种及 GenBank 登录号 Origin species of amino acid sequences of arrestins and their GenBank accession numbers：Bt_Arr：烟粉虱 MED 隐种 *Bemisia tabaci* MED（MK204377）；Nl_Arr：褐飞虱 *Nilaparvata lugens*（XP 022197820.1）；Ag_Arr：冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*（AAG54081.1）；Cf_Arr：佛罗里达弓背蚁 *Camponotus floridanus*（XP 011258347.1）；Gm_Arr：采采蝇 *Glossina morsitans morsitans*（ADD19077.1）. 深蓝色、粉色、浅蓝色阴影和无阴影部分分别表示氨基酸序列的一致性为 100%，75%，50% 和 50% 以下。The amino acids with 100%，75%，50%，and below 50% identity are in dark blue，pink and light blue shades，and without shade，respectively.

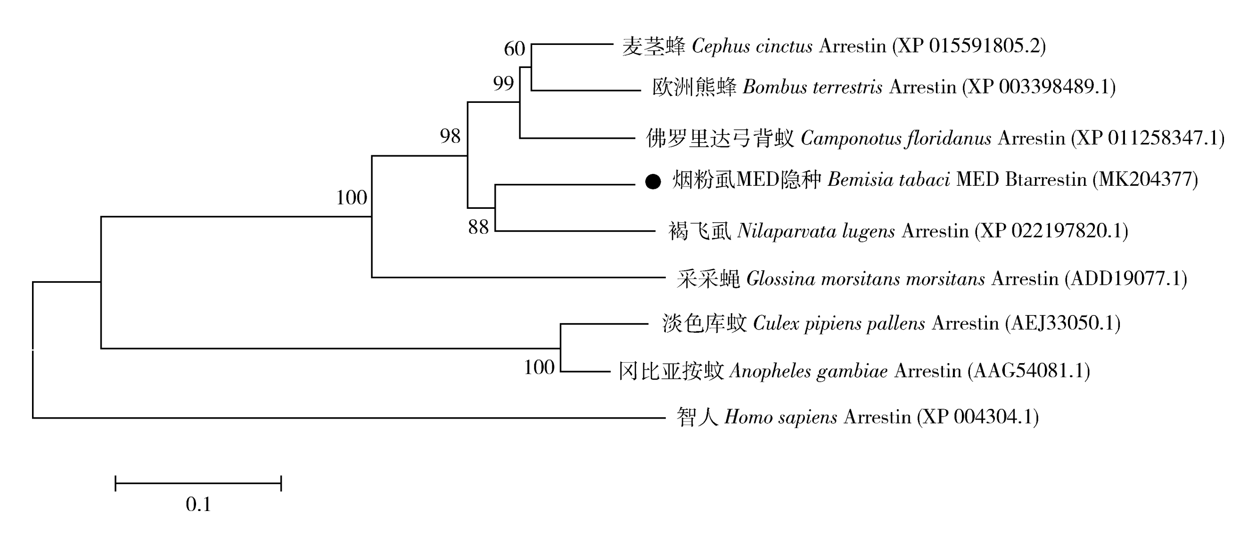


图 4　基于氨基酸序列构建烟粉虱 MED 隐种与其他昆虫及智人 Arrestin 的系统发育树

Fig. 4　Phylogenetic tree of arrestins from *Bemisia tabaci* MED，other insect species and *Homo sapiens* based on the amino acid sequence

采用 MEGA6.0 软件中的邻接法构建系统发育树，重复运行 1 000 次；分支上的数字表示置信度。The phylogenetic tree was constructed using MEGA6.0 with the neighbor-joining method，and 1 000 replications were performed. The numbers at nodes and bootstrap represent the *P*-value.

一致性最高，为 83.21%，估计是因为二者同属半翅目，在进化上亲缘关系比较近；而与其他昆虫未聚为一支，且氨基酸序列一致性在44% ~82% 之间，这表明抑制蛋白基因在几种昆虫中亲缘关系的远近。

在过去几十年中，烟粉虱对吡虫啉、噻虫嗪和其他新烟碱类杀虫剂的抗性，一直是烟粉虱防治中的

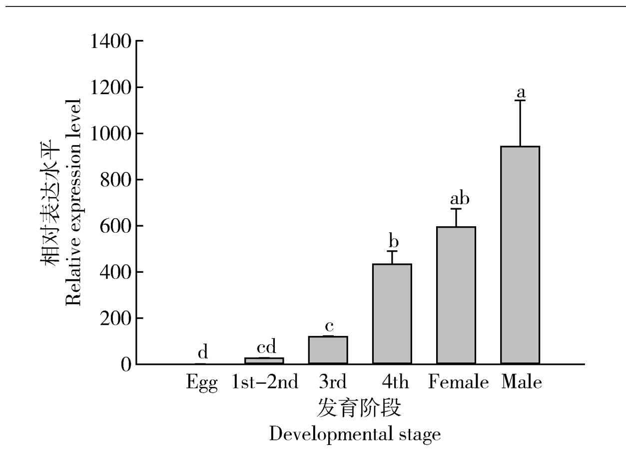


图 5 *Btarrestin* 在烟粉虱 MED 隐种不同发育阶段的相对表达水平

Fig. 5 Relative expression level of *Btarrestin* at different developmental stages of *Bemisia tabaci* MED

Egg：卵期 Egg；1st – 2nd：1 – 2 龄若虫 1st – 2nd instar nymph；3rd：3 龄若虫 3rd instar nymph；4th：4 龄若虫 4th instar nymph；Female：雌成虫 Adult female；Male：雄成虫 Adult male. 图中柱表示平均值 ± 标准误。通过 ANOVA 分析，柱上不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。The bars represent mean ± *SE*. Different small letters above bars indicate significant difference at the 0.05 level by ANOVA analysis.

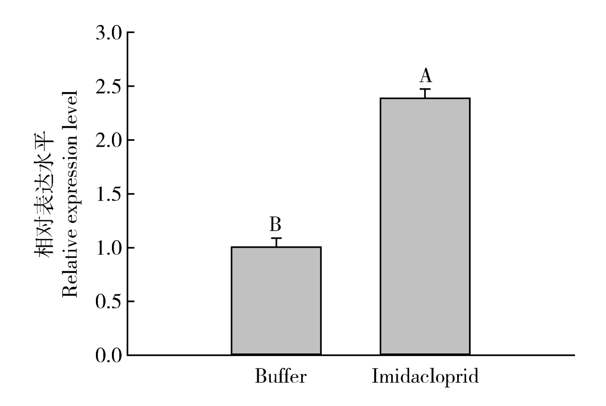


图 6 100 mg/L 吡虫啉处理烟粉虱 MED 隐种成虫 24 h *Btarrestin* 的表达水平

Fig. 6 Relative expression level of *Btarrestin* in *Bemisia tabaci* MED adults exposed to 100 mg/L of imidacloprid for 24 h

Buffer：含有微量丙酮、5% 酵母提取物、30% 蔗糖和水，为对照 Containing traces of acetone, 5% yeast extract, 30% sucrose and water, as the control. 图中数据为平均值 ± 标准误。通过独立样本 *T* 检验，柱上不同大写字母表示在 0.01 水平上差异显著。Data in the figure are mean ± *SE*. Different capital letters above bars indicate significant difference at the 0.01 level by the independent samples *T*-test.

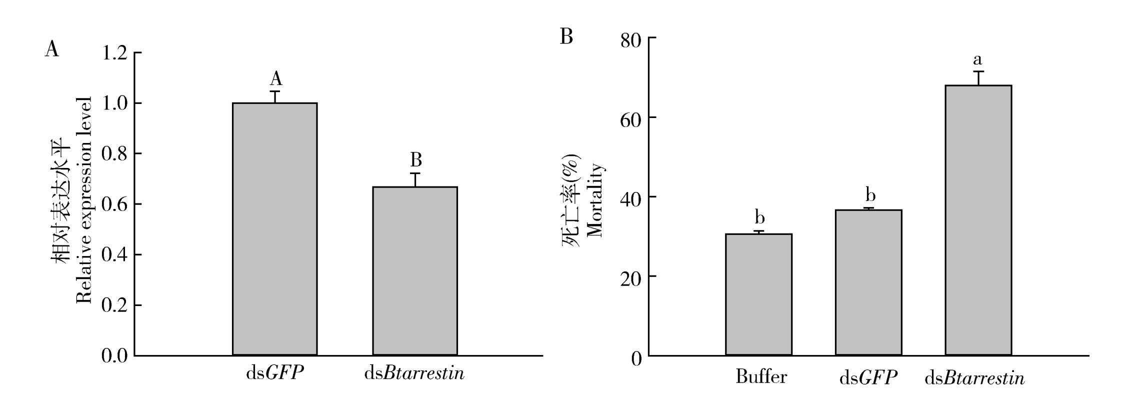


图 7 RNAi 对 *Btarrestin* 表达水平（A）和烟粉虱 MED 隐种对吡虫啉（100 mg/L 处理 24 h）敏感性（B）的影响

Fig. 7 Effect of RNAi on the relative expression level of *Btarrestin* (A) and the sensitivity (B) of *Bemisia tabaci* MED to imidacloprid (100 mg/L for 24 h)

Buffer：含有微量丙酮、5% 酵母提取物、30% 蔗糖和水，为空白对照 Containing traces of acetone, 5% yeast extract, 30% sucrose and water, as the blank control; ds*GFP*：阴性对照 Negative control; ds*Btarrestin*：处理组 Treatment group. 图中柱表示平均值 ± 标准误。通过独立样本 *T* 检验，柱上不同大写字母表示在 0.01 水平上差异显著；通过 ANOVA 分析，不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。Data in the figure are mean ± *SE*. Different capital letters above bars indicate significant difference at the 0.01 level by the independent samples *T*-test, and different small letters indicate significant difference at the 0.05 level by ANOVA analysis.

一个难题（Nauen and Denholm, 2005；Nauen *et al*., 2008）。烟粉虱对吡虫啉或噻虫嗪抗性的形成主要是由于解毒酶活性的增强，包括 P450 单加氧酶（P450 monooxygenases），谷胱甘肽 S-转移酶（glutathione S-transferases），羧酸酯酶（carboxylesterase）和羟基酸脱氢酶（hydroxyacid-oxoacid transhydrogenase, HOT）（Alon *et al*., 2008；Karunker *et al*., 2008；Feng *et al*., 2009；Roditakis *et al*., 2011；Yang *et al*., 2013；Ilias *et al*., 2015；Yang *et al*., 2017；He *et al*., 2018）。尽管许多研究表明烟粉虱对新烟碱类和其他农药的抗性取决于解毒酶的活性，但最近的研究表明抑制蛋白基因也可能参与昆虫对农药的抗性。例如，在淡色库蚊中，相对于敏感品系，抑制蛋白基因在溴氰菊酯抗性种群中表达量显著上升（Sun *et*

al., 2012）。本研究发现吡虫啉可诱导 *Btarrestin* 的表达，干扰 *Btarrestin* 之后，用吡虫啉处理（100 mg/L）烟粉虱 MED 隐种成虫，其死亡率显著上升（图 7）。这表明 Arrestin 是可被诱导的，并且可能参与烟粉虱 MED 隐种对吡虫啉的耐药性。

Btarrestin 在烟粉虱 MED 隐种的每个发育阶段都有表达，表达量随着烟粉虱 MED 隐种的发育逐渐升高，这说明 *Btarrestin* 与烟粉虱 MED 隐种的生长和发育有关。Sun 等（2012）研究发现淡色库蚊雄成虫体内 Arrestin 表达量高于雌成虫，并认为 Arrestin 可能在雄性特有的活动中具有优势，这与本研究的结果相反，这一现象可能是由种群差异造成的。

在研究抗药性机制时，通常会先确定抗性基因，然后在敏感和抗性种群中进行比较（Vontas *et al*., 2018；Zimmer *et al*., 2018）。然而，因为缺少对吡虫啉抗性的烟粉虱 MED 隐种种群，所以本研究未比较吡虫啉敏感和抗性种群的抑制蛋白基因。同时，研究结果发现干扰 *Btarrestin* 后，用吡虫啉处理烟粉虱 MED 隐种，其死亡率显著上升，推测该抑制蛋白基因可能与烟粉虱 MED 隐种对吡虫啉的耐药性有关。Arrestin 可通过调节 GPCR 下游信号通路（Vishnivetskiy *et al*., 2007；Summers, 2016）中的 Gs alpha 亚基蛋白（Gs alpha subunit protein, Gαs）、腺苷酸环化酶（adenylyl cyclase, ACs）和蛋白激酶 A（protein kinase A, PKAs）来调控 P450 基因的表达以及抗药性的发生（Li *et al*., 2014, 2015；Liu *et al*., 2015；Li and Liu, 2017）。由此，Arrestin 可能通过调控 GPCR 及其下游效应器来调控 P450 基因的表达，进而参与吡虫啉的耐药性。

综上所述，抑制蛋白基因可能参与了烟粉虱 MED 隐种对吡虫啉的耐药性，这为我们深入理解烟粉虱 MED 隐种对吡虫啉的抗性机制，并为烟粉虱的化学防控提供了一定的理论基础。

参考文献（References）

Alon M, Alon F, Nauen R, Morin S, 2008. Organophosphates resistance in the B-biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) is associated with a point mutation in an ace1-type acetylcholinesterase and overexpression of carboxylesterase. *Insect Biochem. Molec. Biol*., 38(10): 940–949.

Barbosa LDF, Marubayashi JM, De Marchi BR, Yuki VA, Pavan MA, Moriones E, Navas-Castillo J, Krause-Sakate R, 2014. Indigenous American species of the *Bemisia tabaci* complex are still widespread in the Americas. *Pest Manag. Sci*., 70(10): 1440–1445.

Boykin LM, De Barro PJ, 2014. A practical guide to identifying members of the *Bemisia tabaci* species complex: and other morphologically identical species. *Front. Ecol. Evol*., 2: 45.

Cameron R, Lang EB, Annan IB, Portillo HE, Alvarez JM, 2013. Use of fluorescence, a novel technique to determine reduction in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) nymph feeding when exposed to Benevia and other insecticides. *J. Econ. Entomol*., 106(2): 597–603.

De Barro PJ, Liu SS, Boykin LM, Dinsdale AB, 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annu. Rev. Entomol*., 56: 1–19.

Dinsdale A, Cook L, Riginos C, Buckley YM, De Barro P, 2010. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. *Ann. Entomol. Soc. Am*., 103(2): 196–208.

Elbert A, Nauen R, 2000. Resistance of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides in southern Spain with special reference to neonicotinoids. *Pest Manag. Sci*., 56(1): 60–64.

Esterhuizen LL, Mabasa KG, van Heerden SW, Czosnek H, Brown JK, van Heerden H, Rey MEC, 2013. Genetic identification of members of the *Bemisia tabaci* cryptic species complex from South Africa reveals native and introduced haplotypes. *J. Appl. Entomol*., 137(1–2): 122–135.

Feng YT, Wu QJ, Xu BY, Wang SL, Chang XL, Xie W, Zhang YJ, 2009. Fitness costs and morphological change of laboratory-selected thiamethoxam resistance in the B-type *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *J. Appl. Entomol*., 133(6): 466–472.

Ferguson SSG, Downey III WE, Colapietro A-M, Barak LS, Ménard L, Caron MG, 1996. Role of β-arrestin in mediating agonist-promoted G protein-coupled receptor internalization. *Science*, 271(5247): 363–366.

Goodman OBJr, Krupnick JG, Santini F, Gurevich VV, Penn RB, Gagnon AW, Keen JH, Benovic JL, 1996. β-Arrestin acts as a clathrin adaptor in endocytosis of the β2-adrenergic receptor. *Nature*, 383(6599): 447–450.

He C, Xie W, Yang X, Wang SL, Wu QJ, Zhang YJ, 2018. Identification of glutathione S-transferases in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) and evidence that GSTd7 helps explain the difference in insecticide susceptibility between *B. tabaci* Middle East-Minor Asia 1 and Mediterranean. *Insect Mol. Biol*., 27(1): 22–35.

Heuss C, Gerber U, 2000. G-protein-independent signaling by G-protein-coupled receptors. *Trends Neurosci*., 23(10): 469–475.

Horowitz AR, Kontsedalov S, Ishaaya I, 2004. Dynamics of resistance to the neonicotinoids acetamiprid and thiamethoxam in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *J. Econ. Entomol*., 97(6): 2051–2056.

Horowitz AR, Kontsedalov S, Khasdan V, Ishaaya I, 2005. Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance. *Arch. Insect Biochem. Physiol*., 58(4): 216–225.

Ilias A, Lagnel J, Kapantaidaki DE, Roditakis E, Tsigenopoulos CS, Vontas J, Tsagkarakou A, 2015. Transcription analysis of

neonicotinoid resistance in Mediterranean (MED) populations of *B. tabaci* reveal novel cytochrome P450s, but no nAChR mutations associated with the phenotype. *BMC Genomics*, 16: 939.

Jones DR, 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *Eur. J. Plant Pathol.*, 109(3): 195–219.

Kang DS, Tian X, Benovic JL, 2013. β-Arrestins and G protein-coupled receptor trafficking. *Methods Enzymol.*, 521: 91–108.

Karunker I, Benting J, Lueke B, Ponge T, Nauen R, Roditakis E, Vontase J, Gorman K, Denholm I, Morin S, 2008. Over-expression of cytochrome P450 *CYP6CM*1 is associated with high resistance to imidacloprid in the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 38(6): 634–644.

Krupnick JG, Benovic JL, 1998. The role of receptor kinases and arrestins in G protein-coupled receptor regulation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 38(1): 289–319.

Li M, Hu J, Xu FC, Liu SS, 2010. Transmission of *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* by two invasive biotypes and a Chinese indigenous biotype of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Int. J. Pest Manag.*, 56(3): 275–280.

Li RM, Xie W, Wang SL, Wu QJ, Yang NN, Yang X, Pan HP, Zhou XM, Bai LY, Xu BY, Zhou XG, Zhang YJ, 2013. Reference gene selection for qRT-PCR analysis in the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *PLoS ONE*, 8(1): e53006.

Li T, Cao CW, Yang T, Zhang L, He L, Xi ZY, Bian GW, Liu NN, 2015. A G-protein-coupled receptor regulation pathway in cytochrome P450-mediated permethrin-resistance in mosquitoes, *Culex quinquefasciatus*. *Sci. Rep.*, 5: 17772.

Li T, Liu LN, Zhang L, Liu NN, 2014. Role of G-protein-coupled receptor-related genes in insecticide resistance of the mosquito, *Culex quinquefasciatus*. *Sci. Rep.*, 4: 6474.

Li T, Liu NN, 2017. Regulation of P450-mediated permethrin resistance in *Culex quinquefasciatus* by the GPCR/Gαs/AC/cAMP/PKA signaling cascade. *Biochem. Biophys. Rep.*, 12: 12–19.

Liang P, Guo YJ, Zhou XG, Gao XW, 2014. Expression profiling in *Bemisia tabaci* under insecticide treatment: indicating the necessity for custom reference gene selection. *PLoS ONE*, 9(1): e87514.

Liu NN, Li M, Gong YH, Liu F, Li T, 2015. Cytochrome P450s – Their expression, regulation, and role in insecticide resistance. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 120: 77–81.

Liu SS, Colvin J, De Barro PJ, 2012. Species concepts as applied to the whitefly *Bemisia tabaci* systematics: how many species are there? *J. Integr. Agric.*, 11(2): 176–186.

Lohse MJ, Benovic JL, Codina J, Caron MG, Lefkowitz RJ, 1990. beta-Arrestin: a protein that regulates beta-adrenergic receptor function. *Science*, 248(4962): 1547–1550.

Lohse MJ, Hoffmann C, 2014. Arrestin interactions with G protein-coupled receptors. *Handb. Exp. Pharmacol.*, 219: 15–56.

Luan B, Zhao J, Wu HY, Duan BY, Shu GW, Wang XY, Li DS, Jia WP, Kang JH, Pei G, 2009. Deficiency of a β-arrestin-2 signal complex contributes to insulin resistance. *Nature*, 457(7233): 1146–1149.

Luo C, Jones CM, Devine G, Zhang F, Denholm I, Gorman K, 2010. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* biotype Q (Hemiptera: Aleyrodidae) from China. *Crop Prot.*, 29(5): 429–434.

Luo C, Zhang ZL, 2002. The occurrence and prevention of *Bemisia tabaci*. *Plant Prot. Technol. Exten.*, 22(3): 35–39. [罗晨, 张芝利, 2002. 烟粉虱的发生与防治. 植保技术与推广, 22(3): 35–39]

Nauen R, Bielza P, Denholm I, Gorman K, 2008. Age-specific expression of resistance to a neonicotinoid insecticide in the whitefly *Bemisia tabaci*. *Pest Manag. Sci.*, 64(11): 1106–1110.

Nauen R, Denholm I, 2005. Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: current status and future prospects. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 58(4): 200–215.

Nauen R, Stumpf N, Elbert A, 2002. Toxicological and mechanistic studies on neonicotinoid cross resistance in Q-type *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Manag. Sci.*, 58(9): 868–875.

Pfaffl MW, 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.*, 29(9): e45.

Prabhaker N, Castle S, Henneberry TJ, Toscano NC, 2005. Assessment of cross-resistance potential to neonicotinoid insecticides in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Bull. Entomol. Res.*, 95(6): 535–543.

Rauch N, Nauen R, 2003. Identification of biochemical markers linked to neonicotinoid cross resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 54(4): 165–176.

Roditakis E, Morou E, Tsagkarakou A, Riga M, Nauen R, Paine M, Morin S, Vontas J, 2011. Assessment of the *Bemisia tabaci CYP6CM1vQ* transcript and protein levels in laboratory and field-derived imidacloprid-resistant insects and cross-metabolism potential of the recombinant enzyme. *Insect Sci.*, 18(1): 23–29.

Schuster DJ, Mann RS, Toapanta M, Cordero R, Thompson S, Cyman S, Shurtleff A, Morris II RF, 2010. Monitoring neonicotinoid resistance in biotype B of *Bemisia tabaci* in Florida. *Pest Manag. Sci.*, 66(2): 186–195.

Shenoy SK, Drake MT, Nelson CD, Houtz DA, Xiao KH, Madabushi S, Reiter E, Premont RT, Lichtarge O, Lefkowitz RJ, 2006. β-Arrestin-dependent, G protein-independent ERK1/2 activation by the β2 adrenergic receptor. *J. Biol. Chem.*, 281(2): 1261–1273.

Shukla AK, Xiao KH, Lefkowitz RJ, 2011. Emerging paradigms of β-arrestin-dependent seven transmembrane receptor signaling. *Trends Biochem. Sci.*, 36(9): 457–469.

Sonoda N, Imamura T, Yoshizaki T, Babendure JL, Lu JC, Olefsky JM, 2008. β-Arrestin-1 mediates glucagon-like peptide-1 signaling to insulin secretion in cultured pancreatic β cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105(18): 6614–6619.

Summers RJ, 2016. Molecular pharmacology of G protein-coupled receptors. *Br. J. Pharmacol.*, 173(20): 2931–2933.

Sun Y, Zou P, Yu XY, Chen C, Yu J, Shi LN, Hong SC, Zhou D, Chang XL, Wang WJ, Shen B, Zhang DH, Ma L, Zhu CL, 2012. Functional characterization of an arrestin gene on insecticide resistance of *Culex pipiens pallens*. *Parasit. Vectors*, 5: 134.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S, 2013.

MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.*, 30(12): 2725-2729.

Upadhyay SK, Chandrashekar K, Thakur N, Verma PC, Borgio JF, Singh PK, Tuli R, 2011. RNA interference for the control of whiteflies (*Bemisia tabaci*) by oral route. *J. Biosci.*, 36(1): 153-161.

Vishnivetskiy SA, Raman D, Wei JH, Kennedy MJ, Hurley JB, Gurevich VV, 2007. Regulation of arrestin binding by rhodopsin phosphorylation level. *J. Biol. Chem.*, 282(44): 32075-32083.

Vontas J, Grigoraki L, Morgan J, Tsakireli D, Fuseini G, Segura L, de Carvalho JN, Nguema R, Weetman D, Slotman MA, Hemingway J, 2018. Rapid selection of a pyrethroid metabolic enzyme CYP9K1 by operational malaria control activities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 115(18): 4619-4624.

Wang R, Fang Y, Mu CQ, Qu C, Li FQ, Wang ZY, Luo C, 2018. Baseline susceptibility and cross-resistance of cycloxaprid, a novel cis-nitromethylene neonicotinoid insecticide, in *Bemisia tabaci* MED from China. *Crop Prot.*, 110: 283-287.

Wang ZY, Yan HF, Yang YH, Wu YD, 2010. Biotype and insecticide resistance status of the whitefly *Bemisia tabaci* from China. *Pest Manag. Sci.*, 66(12): 1360-1366.

Wang ZY, Yao MD, Wu YD, 2009. Cross-resistance, inheritance and biochemical mechanisms of imidacloprid resistance in B-biotype *Bemisia tabaci*. *Pest Manag. Sci.*, 65(11): 1189-1194.

Yang X, Xie W, Li RM, Zhou XM, Wang SL, Wu QJ, Yang NN, Xia JX, Yang ZZ, Guo LT, Liu YT, Zhang YJ, 2017. RNA interference-mediated knockdown of the hydroxyacid-oxoacid transhydrogenase gene decreases thiamethoxam resistance in adults of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Sci. Rep.*, 7: 41201.

Yang X, Xie W, Wang SL, Wu QJ, Pan HP, Li RM, Yang NN, Liu BM, Xu BY, Zhou XM, Zhang YJ, 2013. Two cytochrome P450 genes are involved in imidacloprid resistance in field populations of the whitefly, *Bemisia tabaci*, in China. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 107(3): 343-350.

Yuan LZ, Wang SL, Zhou JC, Du YZ, Zhang YJ, Wang JJ, 2012. Status of insecticide resistance and associated mutations in Q-biotype of whitefly, *Bemisia tabaci*, from eastern China. *Crop Prot.*, 31(1): 67-71.

Zhang ZL, Luo C, 2001. The occurrence and control of *Bemisia tabaci* in China. *Plant Prot.*, 27(2): 25-31. [张芝利, 罗晨, 2001. 我国烟粉虱的发生危害和防治对策. 植物保护, 27(2): 25-31]

Zimmer CT, Garrood WT, Singh KS, Randall E, Lueke B, Gutbrod O, Matthiesen S, Kohler M, Nauen R, Davies TGE, Bass C, 2018. Neofunctionalization of duplicated P450 genes drives the evolution of insecticide resistance in the brown planthopper. *Curr. Biol.*, 28(2): 268-274.

（责任编辑：马丽萍）